

(19)대한민국특허청(KR)등록특허공보(B1)

(51) Int.Cl. 6

A61K 38/27

공고일자	1998년07월15일
등록번호	특0143767
등록일자	1998년04월10일
출원번호	특1991-024288
출원일자	1991년12월24일
공개번호	특1993-012035
공개일자	1993년07월20일
대리인	최은화
	장성구
발명자	김남중
	조흥수
	이병건
권리자	김남중
	조흥수
	이병건
심사관	류종훈
발명의명칭	소마토트로핀을 함유하는 지속성 조성물



요약

본 발명은 생체내 활성인 소마토트로핀을 1종이상의 수용성 중합체를 사용하여 과립화시킨 후 제피과정을 거쳐 제조된, 생체내에서 소마토트로핀을 지속성으로 방출하는 이식투여 가능한 조성물을 제공한다.



태표도

Fig. 1



명세서

[발명의 명칭]

소마토트로핀을 함유하는 지속성 조성물

[도면의 간단한 설명]

제1도는 표1에 따른 그래프이고, 제2도는 표1의 실시예1과 표2에 따른 그래프이고,

제3도는 표3에 따른 그래프이다.

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 소마토트로핀을 함유하는 지속성 조성물에 관한 것으로서, 특히 포유 동물에 비경구적으로 투여했을 때 생체내 활성을 갖는 소마토트로핀(somatotropin)을 지속적으로 방출시키는 조성물에 관한 것이다. 소마토트로핀은 생체내에서 활성을 갖는 191개의 아미노산으로 이루어진 폴리펩티드의 일종으로 이물질은 간을 자극하여 소마토메딘-1(somatomedin-1)을 생성하고, 이 화합물은 다시 근육과 뼈의 성장을 일으켜서 동물성장을 촉진하는 것으로 알려져있다. 생체내 활성을 갖는 소마토트로핀의 대부분은 생체내에서 그 반감기가 짧기 때문에, 생물학적인 효과를 충분히 나타내는 동시에 원하는 기간동안 그 효과를 유지시키기 위해서는 유효량보다 과량을 투여시켜야 하거나 또는 투여 빈도를 높여야 하므로 투여 대상에게는 큰 손상을 입힐 수 있다. 따라서, 이러한 생물학적으로 활성인 물질을 생체내에 투여할 경우에는 한번의 투여로 효과를 장기간 동안 지속시킬 필요가 있기 때문에, 이러한 요구에 따라 생체내 활성을 갖는 물질을 지속적으로 방출시키는 조성물을 개발하여 투여 빈도를 최소화시킴으로써 투여대상의 손상을 줄이는 한편, 잦은 투여에 따른 번거로움을 해소하기 위한 연구가 다각적으로 이루어져 왔다.

현재까지 생체내 활성인 물질, 특히 소마토트로핀을 지속적으로 방출시키는 조성물들은 주로 주사형태 조성물(injectable formula)로서 그 예는 대한민국 특허 공고 제 89-2631 호 및 대한민국 공개특허 제 87-1825 호에서는 식물성 오일이나 광물성 오일을 사용하여 부형제 및 보습제를 첨가하여 농화유 비이클을 형성한 후 전이금속 착제의 소마토트로핀을 혼합하여 방출 지속성을 연장시키고자 하였다.

그리고 다른 예로는 유럽특허출원 제 193, 917 호와 유럽특허출원 제 314, 421호에서는 물 또는 오일에 탄수화물 중합체인 덱스트란을 조성물에 첨가한 예도 있다. 또 다른 예로는 유럽특허 제 211, 691 호에서는 소마토트로핀에 식물성 오일과 왁스(wax)를 첨가하여 소마토트로핀의 생체내에서의 활성 지속성을 연장시키고자 하였으며, 또 대한민국 특허출원 제 90-1689 및 대한민국 특허출원 제 90-23104 호에서는 소마토트로핀에 초산 토크페롤을 혼합하여 생체내에서의 활성 지속성을 연장시키고자한 조성물도 있다. 생물학적으로 활성인 소마토트로핀을 생체내 투여하는 다른 방법인 이식투여 조성물(implantable formula)에 대한 예로서는 대한민국 특허공고 제 90-6886 호에서 소마토트로핀의 방출을 억제하기 위해 제형체를 셀락(Shellac), 밀랍(Beeswax), 셀룰로오스(Cellulose)와 같은 물질을 사용하여 부분적으로 덮는 방벽 제피(Barrier Coating)를 제조하는 제형체의 방법이 기술되어 있다.

다른 예로는 대한민국 특허출원 86-65717 호에서는 소마토트로핀에 슈크로우스(sucrose)와 에틸 셀룰로오스(ethyl cellulose)를 사용하여 펠렛(pellet)을 만들고 여기에 미공성 폴리에틸렌과 비유공성 폴리에틸렌을 사용하여 제피를 형성하므로 소마토트로핀의 지속성을 연장시키고자 하였다.

또다른 예로는 국제특허 출원공개번호 WO 90-11070 호에서는 소마토트로핀을 비수용성과 비수용성 폴리머를 사용하여 펠렛을 제조하여 역시 지속성을 연장시키고자 하였다. 위의 발명들에 대한 이식투여 조성물들은 생체내에 투여시 생체 조직과의 부적합성과 너무 오랜 잔류 기간 때문에 섬유조직(fibrous tissue)에 의한 조성물의 피낭(encapsulation)현상이 발생되므로 생체 잔류성에 문제점들이 있다.

이에 본 발명자들은 생물학적으로 활성인 소마토트로핀을 생체내 투여하는 방법중 생체내 잔류성 문제점을 없애기 위한 이식투여 조성물(implantable formula)을 연구해온 바 본 발명을 완성하게 되었다.

즉, 본 발명은 수용성 중합체인 폴리에틸렌 글리콜과 소마토트로핀 또는 엘(L)-알파(α)-포스파티딜 콜린과 혼합된 소마토트로핀(이하 리포솜 소마토트로핀:대한민국 특허출원 제 23104 호에 제조 방법이 기술되어 있음)을 혼합하여 과립화(granulation)하고 여기에 하이드록시 프로필 셀룰로오스(hydroxy propyl cellulose)나 하이드록시 프로필 메틸 셀룰로오스(hydroxy propyl methyl cellulose)로 과립을 제피(coating)하여 정제(tablet)나 펠렛(pellet)으로 제조하여 지속성을 연장하였다.

이하 본 발명을 상세히 설명하면 다음과 같다.

본 발명은 폴리에틸렌 글리콜 중 분자량이 20,000이상인 것중 선택된 1종 또는 2종 이상의 물질과 소마토트로핀 또는 리포좀 소마토트로핀을 혼합한 후 여기에 약간의 물을 첨가하고 혼합하여 과립화(granulation)한다. 과립화된 혼합체에 에탄올에 녹인 하이드록시 프로필 셀룰로오즈를 스프레이 건(spray gun)을 이용하여 분사시켜 혼합체를 고루 제피(coating)화 시킨 후, 제피화된 혼합체를 정제 제조기계(tablet machine)에 넣고 정제나 펠렛을 제조하여 지속성을 연장시킨 이식 투여 조성물을 완성하게 되었다.

이하 본 발명을 실시예에 의거하여 더욱 상세하게 설명하면 다음과 같다.

[실시예1]

대한민국 특허출원 제 90-23104 호에서 제조한 엘-알파-포스파티딜 콜린과 혼합된 소의 소마토트로핀(이하 리포좀 우형 소마토트로핀)을 제조하여 동결건조하였다. 폴리 에틸렌 글리콜 분자량(35,000) 10g과 리포좀 우형 소마토트로핀 2.66g을 혼합한 후 여기에 증류수 5ml를 적정(titration)하면서 첨가하여 재혼합시켜 과립을 형성하였다.

에탄올 100ml에 하이드록시 프로필 셀룰로오즈 10g을 넣고 호모믹서(Homo-mixer)로 녹인 후 이 용액 10ml을 폴리에틸렌 글리콜 35,000 과 리포좀 우형 소마토트로핀의 과립을 교반하면서 스프레이 건(spray gun)으로 분사시킨다. 분사가 끝난 후 과립을 계속 교반하면서 제피 용액이 없이 공기를 스프레이 건을 통해 분사시켜 제피화된 과립을 건조시켰다.

건조된 과립 253.2mg을 정량하여 정제 제조기계(tablet machine;KORSCH)를 사용하여 지름 0.9cm, 두께 0.2cm의 정제(tablet)를 제조하였다.

제조된 정제를 용해시험(dissolution test)을 통해 약물 방출시험을 행하였다. 사용된 용해 시험기계는 칼레바 모델 번호 7 에스티(CALEVA Model 7ST)를 사용하였다. 용해 시험기계의 용액 기계의 용액 용기에 수산화나트륨(NaOH)으로 pH 7.3이 되게 조절한 10mM 포스페이트 완충용액(phosphate buffer solution) 400ml, 온도 37℃, 로터(Roter)속도 100rpm으로 조건을 맞추고, 분광광도계(spectrophotometer)를 사용하여 파장(wave length) 280nm에서 약물 방출을 측정하였다. 소마토트로핀에 있는 티로신, 페닐 알라닌, 트립토판 잔기들은 각각 275nm 와 280nm의 자외선을 흡수한다. 소마토트로핀에 있어서의 이 아미노산들을 합친 수준은 거의 일정하므로 소마토트로핀의 농도는 280nm에서의 흡광도와 비례하게 된다. 순수한 소마토트로핀의 경우 소마토트로핀의 농도가 1mg/ml 이고 자외선이 통과하는 경로가 1cm 일 때 280nm에서의 흡광도는 1.0이다. 따라서 소마토트로핀의 농도는 280nm에서의 흡광도를 측정하므로 방출량을 쉽게 계산할 수 있다. 소마토트로핀이 방출량을 계산하는 식은 아래와 같다.

방출량(mg)=280nm에서 측정된 흡광도 x용해시험에 사용된 용액의 용량(ml)

용액의 용량(ml)

결과는 표1에 나타내었다.

[실시예2]

실시예1과 같은 방법으로 제조하였으며, 하이드록시 프로필 셀룰로오즈의 양을 10g 대신 5g을 사용하였으며, 실시예1과 같은 방법으로 약물 방출을 측정하였다. 결과는 표1에 나타내었다.

[실시예3]

실시예1과는 달리 하이드록시 프로필 셀룰로오즈로 제피화하지 않았으며, 리포좀 우형 소마토트로핀과 폴리에틸렌 글리콜 35,000 두 물질만을 혼합하여 실시예1과 같이 정제를 제조하였으며, 실시예1과 같은 방법으로 약물 방출을 측정하였다.

결과는 표1에 나타내었다.

[실시에4]

실시에3과 같은 방법으로 제조하였으나, 폴리에틸렌 글리콜의 양을 10g 대신 7.565g을 사용하였고, 분말 크기가 0.7mm로 분쇄되는 분쇄기(pulverizer, Model AP-S)를 통과한 치토산(chitosan)1.775g을 첨가하였으며, 실시에1과 같은 방법으로 약물방출을 측정하였다. 결과는 표1에 나타내었다.

[실시에5]

실시에3과 같은 방법으로 제조하였으나, 리포좀 우형 소마토트로핀 대신 동결 건조된 우형 소마토트로핀을 사용하여 분자량 35,000인 폴리 에틸렌 글리콜과 혼합하여 정제 제조기계로 정제를 제조하였으며, 실시에1과 같은 방법으로 약물 방출을 측정하였다. 결과는 표2에 나타내었다.

[실시에6]

실시에5에서와 같은 방법으로 제조하였으나, 분자량 35,000인 폴리 에틸렌 글리콜 대신 분자량 20,000인 폴리에틸렌 글리콜을 사용하였으며 실시에1과 같은 방법으로 약물 방출을 측정하였다. 결과는 표2에 나타내었다.

[실시에7]

실시에1에서 제조한 조성물에 리포좀 소 소마토트로핀 대신 리포좀 돼지 소마토트로핀을 사용하여 생체내 실험(in vivo)을 실시하였다. 실험에 사용한 동물로는 80-100g 정도의 암컷 에스디 랫트를 뇌하수체 제거 수술(Hypophysectomy)의 한 방법인 인두주위를 수술하는 방법(Parapharyngeal method)을 사용하여 수술한 후, 수술후 2주부터 1주일간 매일같은 시간에 체중을 측정하여 체중의 변화가 없는 랫트를 선별하였다. 실시에1과 같이 제조한 정제를 같은 크기로 4등분하여 1개(63.3mg)를 체중의 변화가 없는 랫트 3마리의 복측 피하를 약간만 절개하고 이식시킨후 절개된 피부를 봉합하였다. 매일 같은 시간 체중을 측정하고 이식시키기 전 3일간의 체중과 비교하여 증가된 무게를 표3에 나타내었다. 역시 위와 같은 방법으로 만들어진 체중의 변화가 없는 랫트 3마리를 사용하여 아무것도 투여하지 않고 대조군으로 실험하였다.

시 간 (분)	시 속	시 차 에 1	시 차 에
15	0.1		0.4
30	2.4		8.0
45	3.6		12.0
60	4.8		17.2
75	6.0		20.0
90	8.0		23.6
105	8.6		26.0
120	12.0		29.4
160	13.6		3.16
180	15.2		33.6
240	17.6		11.0
300	21.2		
360	34.4		

시 간 (분)	일 시 에 5
15	9.6
30	17.6
45	23.6
60	28.8
75	32.8
90	37.2
105	38.8
120	40.0
150	
180	

<p>실험 결과</p> <p>실험 횟수 (회)</p>	<p>무</p> <p>시</p> <p>간</p>	
1	6.83 ± 1.32	
2	13.07 ± 0.64	
3	15.67 ± 1.12	
4	16.73 ± 1.01	
5	18.80 ± 2.22	
6	19.40 ± 1.47	
7	18.77 ± 2.03	



청구의 범위

청구항 1 :

생체내 활성인 소마토트로핀을 분자량 20,000 이상을 갖는 폴리에틸렌 글리콜 1종 이상을 사용하여 과립화시킨 후 제피(coating)과정을 거쳐 제조된, 이식 투여 가능한 소마토트로핀의 지속성 방출형 조성물.

청구항 2 :

제1항에 있어서, 상기 소마토트로핀 20 중량% 이상 포함하도록 제조된 조성물.

청구항 3 :

제1항에 있어서, 소마토트로핀이 포유 동물의 뇌하수체로부터 추출하여 농축시켜 제조된 것임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4 :

제1항에 있어서, 소마토트로핀이 미생물에 의한 DNA 재조합 방법으로 제조된 것임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5 :

제1항에 있어서, 소마토트로핀이 소의 소마토트로핀 또는 돼지 소마토트로핀임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6 :

제1항에 있어서, 소마토트로핀이 엘-알파-포스파티딜 콜린과 혼합된 동물 성장 호르몬임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7 :

제1항에 있어서, 폴리에틸렌 글리콜의 함량이 전체 조성물의 70 내지 80 중량%인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8 :

제1항에 있어서, 폴리에틸렌 글리콜의 분자량이 20,000 내지 35,000 임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9 :

제1항에 있어서, 제피 과정중의 제피 용액으로 하이드록시 프로필 셀룰로오스를 사용하여 제조된 조성물.

청구항 10 :

제1항에 있어서, 제피 과정중의 제피용액으로 하이드록시 프로필 메틸 셀룰로오스를 사용하여 제조된 조성물.

청구항 11 :

제9항 또는 제10항에 있어서, 하이드록시 프로필 셀룰로오스 또는 하이드록시 프로필 메틸 셀룰로오스를 5 내지 10% 농도로 용매에 용해시켜 사용하여 제조된 조성물.

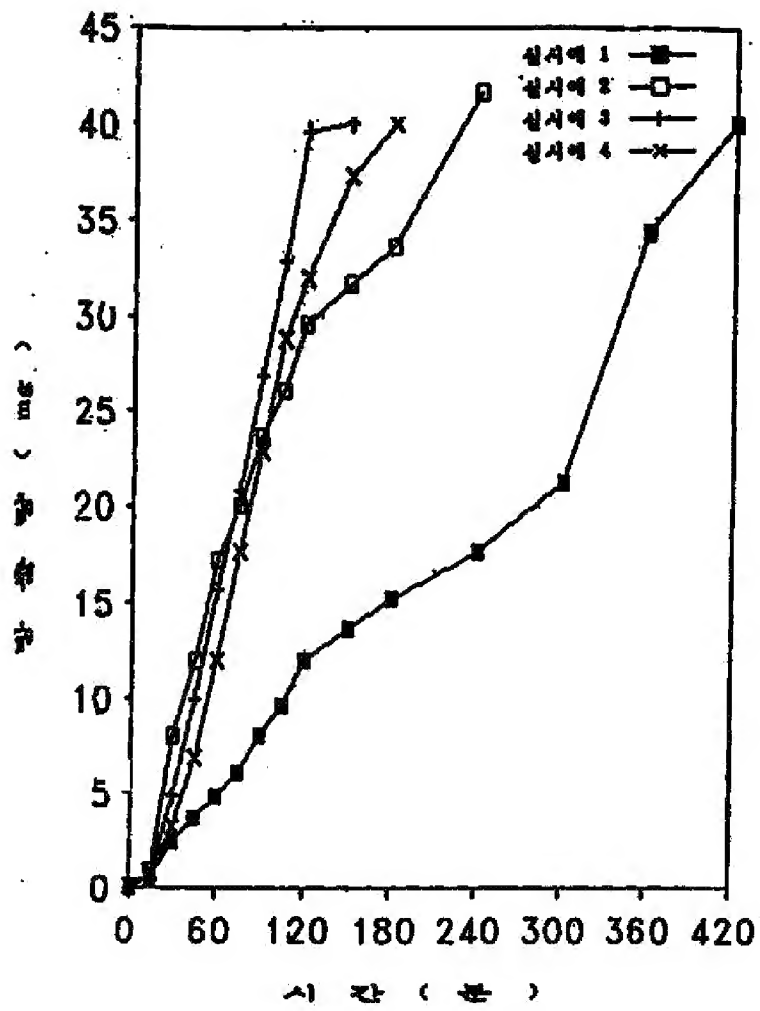
청구항 12 :

제1항에 있어서, 정제(tablet) 또는 펠렛(pellet)형태인 것을 특징으로 하는 조성물.

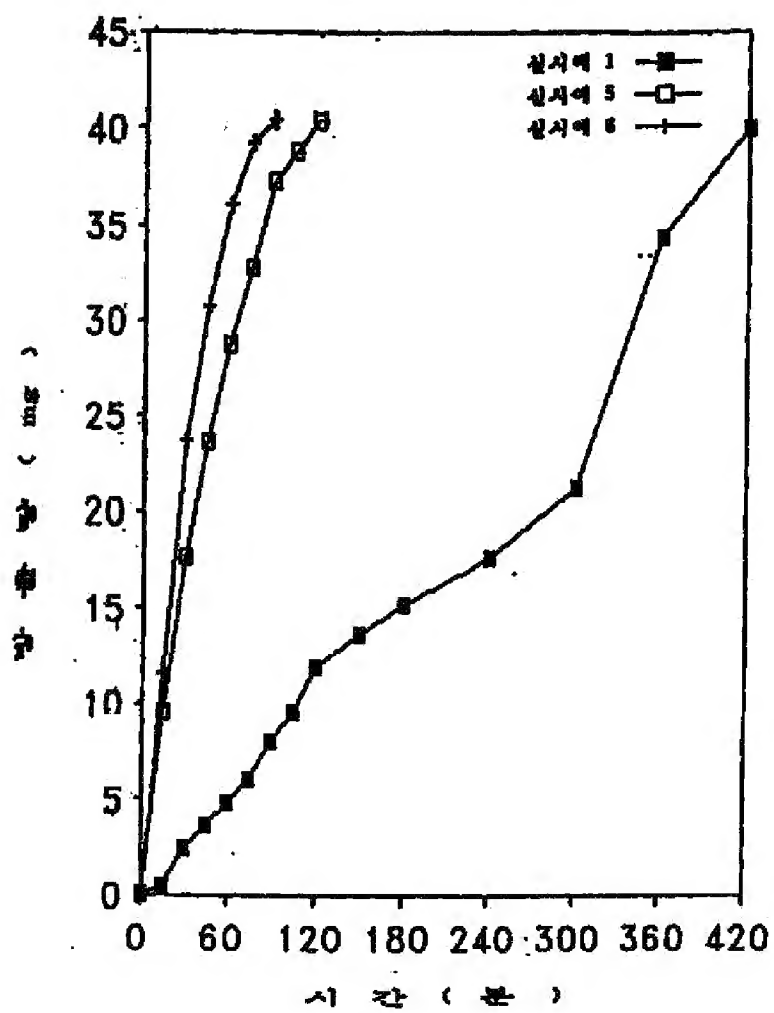


도면

도면 1



도면 2



도면 3

